

虎刺梅提取物对大葱紫斑病原孢子和菌丝的影响

梁魁景, 祝铁钢

(河北省衡水学院生命科学学院, 053000)

摘要: 在25℃培养箱条件下, 通过测定大葱紫斑病原菌的孢子萌发率和病原菌丝生长抑制率, 研究了虎刺梅提取物对大葱紫斑病原菌的抑菌活性。试验结果显示, 虎刺梅提取物浓度为100 mg/mL、50 mg/mL时, 大葱紫斑病原孢子萌发率低于50%, 菌丝生长抑制率大于60%。表明虎刺梅提取物对大葱紫斑病原菌具有较强的抑制作用。

关键词: 虎刺梅提取物; 大葱紫斑病原菌; 萌发率; 抑制率

大葱紫斑病又称黑斑病, 是由葱格孢菌引起的真菌性病害, 主要为害大葱的叶和花梗。近年来, 随着大葱生产的发展, 大葱紫斑病的发生与为害逐年增加, 在河北省及其他省份均有不同程度发生, 严重时影响大葱生长和产量, 造成一定的经济损失。因此, 有效防治大葱紫斑病对提高产量和效益十分重要。

植物是生物活性化合物的巨大天然宝库, 其产生的次生代谢产物超过40多万种, 近年来, 开发植物次生代谢产物用于杀虫、抑菌具有广泛的应用前景。虎刺梅是大戟科大戟属藤本多刺落叶植物。全世界大戟属植物有2 000余种, 中国产200余种, 其中光棍树、一品红、变叶木、霸王鞭, 药用植物中的大戟、泽漆、甘遂、狼毒、续随子等都与虎刺梅同属^[1]。大戟属植物的共同特点是, 树体汁液含有特殊结构的二萜类化合物。笔者利用超声波辅助提取法提取虎刺梅植物提取物, 并对提取物进行了大葱紫斑病原菌抑菌活性试验, 以期寻找新的具有抗菌、抑菌活性的植物源农药。

基金项目: 衡水市科学技术研究指导计划项目 (10006z)。

1 材料和方法

1.1 材料

供试植物为虎刺梅, 购于衡水花卉市场。

供试大葱紫斑病原菌采自衡水卢家村大葱菜地。

1.2 方法

1.2.1 虎刺梅植物提取物的制备

虎刺梅烘干粉碎→提取 (虎刺梅:70%乙醇=1:5, *m/V*) →超声波 (25 min) →离心 (3 500 r/min, 20 min) 取上清液→40℃旋转蒸发→用70%乙醇定容到50 mL (含虎刺梅干粉末50 g) →编号→4℃冰箱保存备用^[2-3]。

1.2.2 试验设计

试验设5个处理: 在无菌条件下, 将待测提取液原液用70%乙醇稀释成所需浓度100 mg/mL、50 mg/mL、10 mg/mL, 分别取不同浓度提取液的稀释液1 mL加入100 mL的PDA培养基中, 摇匀后趁热倒入直径90 mm的培养皿内, 即处理1、处理2、处理3。取70%乙醇1 mL加入100 mL的PDA培养基中, 制平板, 即处理4。处理5为空白对照, 不加入任何抑菌物质的PDA培养基。

1.2.3 提取物对孢子萌发率的影响

大葱紫斑病原菌经培养后在菌落表面产生分生孢子, 用毛笔将分生孢子刷于盛有灭菌水的烧杯中, 将其配成在10×10倍显微镜下每视野约30~35个分生孢子的悬浮液。用接种环取孢子悬浮液均匀地涂在不同处理PDA培养基载玻片上, 保湿, 置于25℃光照培养箱培养, 6 h后, 用1 g/L的HgCl₂固定, 检查孢子萌发情况, 每个处理观察10个视野



约300个孢子。孢子萌发以芽管长度超过孢子直径长度(指直径小的一边)的1/2为标准。孢子萌发率计算公式如下。

$$\text{孢子萌发率}(\%) = \frac{\text{萌发孢子数}}{\text{观察孢子数}} \times 100$$

1.2.4 PDA 平板法测定提取物的抑菌活性

预先培养大葱紫斑病原菌,待平板凝固后接入生长一致的菌饼($d=6\text{ mm}$),菌丝面向下,每皿接种1个菌饼,每个处理重复3次,25℃光照培养箱培养6d后观察结果。用十字交叉法测量供试真菌菌落生长直径,用下述公式计算抑菌率。

$$\text{菌丝生长抑制率}(\%) = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 提取物对病原孢子萌发率的影响

从表1可知,不同浓度虎刺梅提取物对大葱紫斑病原孢子萌发率有抑制作用。100 mg/mL、50 mg/mL浓度下,病原孢子萌发率均低于50%;而浓度为10 mg/mL时,孢子萌发率接近60%,说明该提取物具有很好的抑制作用,且不同浓度之间差异比较明显,从而明确了提取物的最佳抑菌浓度为100 mg/mL。

表1 不同处理的病原孢子萌发率

| 处理 | 孢子萌发数/个 | 萌发率/% |
|-----------|---------|---------|
| 100 mg/mL | 45 | 15.90a |
| 50 mg/mL | 101 | 35.69b |
| 10 mg/mL | 164 | 57.95bc |
| 70% 乙醇 | 256 | 90.46d |
| CK | 283 | |

2.2 提取物对病原菌丝生长的影响

由表2可知,在供试条件下,不同浓度虎刺梅提取物对大葱紫斑病菌均有一定的抑制作用。在100 mg/mL、50 mg/mL的浓度下,排除乙醇的干扰(相加或相减作用)影响,抑制率大于70%。而10 mg/mL虎刺梅提取物的抑制作用不明显,说明虎刺梅提取物在100 mg/mL、50 mg/mL较高浓度下具有较高的活性。

表2 不同处理的病原菌丝生长抑制率

| 处理 | 菌落直径/mm | 抑制率/% |
|-----------|---------|-------|
| 100 mg/mL | 11.2 | 84.47 |
| 50 mg/mL | 16.4 | 77.25 |
| 10 mg/mL | 47.5 | 34.12 |
| 70% 乙醇 | 65.3 | 0.94 |
| CK | 72.1 | |

3 结论与讨论

利用超声波辅助提取法提取虎刺梅植物提取物,并对提取物进行了农用抑菌活性试验。结果表明,不同浓度的虎刺梅提取物对大葱紫斑病菌均有一定抑制活性,在100 mg/mL、50 mg/mL浓度下,大葱紫斑病原孢子的萌发率低于50%,菌丝生长抑制率大于70%。说明该提取物具有很好的抑菌作用,且不同浓度之间的抑制作用差异比较明显,从而明确了提取物的最佳抑菌浓度为100 mg/mL。

从植物提取物中寻找有生物活性的物质,是开发、研制新型农药的有效途径之一^[4]。植物提取物中含有大量的化学物质,如萜烯类、生物碱、类黄酮、甾体、酚类、独特的氨基酸和多糖等,均具有杀虫和抗菌活性。以植物为原料进行植物源农药的研制与开发已成为世界各国农药研发的热点。

参考文献

- [1] 孔德平,王增池.虎刺梅的组织培养及快速繁殖初报[J].安徽农业科学,2008,36(15):6208.
- [2] Ajaiyeoba E O, Tahman A U, Choudhary I M. Preliminary antifungal and cytotoxicity studies of extracts of *Ritchiea capparoides* var. *Longipedicellata*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 1998,62(3):243-246.
- [3] Ejechi B O, Ojeata A, Oyeleke S B. The effect of extracts of some Nigerian spices on biodeterioration of Okra (*Abelmoschus* (L.) Moench) by fungi[J]. Journal of Phytopathology, 1997,145(11/12):469-472.
- [4] 王兴全,张新虎,杨顺义,等.苍耳提取物对番茄灰霉病菌抑制机理的研究[J].甘肃农业大学学报,2008,43(3):107-110. 回